この添付文書をよく読んでから使用してください。
また、必要時に読めるように保管しておいてください。

体外診断用医薬品　　** 2012 年 12 月改訂（第 8 版）
＊2012 年　1 月改訂（第 7 版）
製造販売承認番号：21900AMX00966000

C 型肝炎ウイルス核酸キット

コバス TaqMan® HCV「オート」

【重要な基本的注意】
本キットのプライマーやプローブの反応領域に変異のあるウイルス株及び抗ウイルス薬の作用などにより反応領域が変異したウイルス株では、反応性が低下し、正確に測定できなくなることがあるので注意してください。

【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用であり、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状やほかの検査結果などと併せて担当医師が総合的に判断してください。
3. 添付文書に記載された使用目的及び用法・用量に従って使用してください。記載された使用目的及び用法・用量以外での使用については、測定結果の信頼性を保証しかねます。
4. 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読み、記載に従って使用してください。また、試薬ごとに設定された反応時間及び温度などは厳守してください。
5. 試薬及び消耗品は専用のものを使用し、その容器・付属品などはほかの目的に転用しないでください。
6. TaqMan HCV 高値(＋)コントロール〔HCV H(+)C〕、TaqMan HCV 低値(＋)コントロール〔HCV L(+)C〕、コバス TaqMan (－)コントロール〔CTM(-)C〕には、ヒト由来成分が含まれており、HBs 抗原、抗 HIV-1/2 抗体及び HIV p24 抗原、抗 HCV 抗体、HIV-1 RNA、HCV RNA 、HBV DNA の陰性が確認されていますが、感染の危険があるので感染性のあるものとして取り扱ってください。
7. キットの試薬を取り扱う際には保護眼鏡、実験着及び使い捨てゴム手袋を着用し、試薬が皮膚、目、粘膜などに触れないように注意してください。もし、このようなことが起きた場合は、大量の水でじゅうぶんに洗い流し、必要に応じて医師の診察を受けてください。

【形状・構造等（キットの構成）】

コバス TaqMan HCV「オート」

1. **TaqMan HCV 試薬カセット1〔HCV CS1〕**
   48 テスト用　1カセット（又は 48 テスト用　6カセット）
   TaqMan 磁性粒子懸濁液〔MGP〕　1×7.0 mL（又は 6×7.0 mL）
   93% イソプロパノール
2. **TaqMan HCV 試薬カセット2〔HCV CS2〕**
   48 テスト用　1カセット（又は 48 テスト用　6カセット）
   TaqMan 溶解試液〔LYS〕　1×78 mL（又は 6×78 mL）
3. **TaqMan HCV 試薬カセット3〔HCV CS3〕**
   48 テスト用　1カセット（又は 48 テスト用　6カセット）
   (1) TaqMan　プロテアーゼ試液〔Pase〕 1×3.8 mL（又は 6×3.8 mL）
   (2) TaqMan　溶出試液〔EB〕　1×7.0 mL（又は 6×7.0 mL）
4. **TaqMan HCV 試薬カセット4〔HCV CS4〕**
   48 テスト用　1カセット（又は 48 テスト用　6カセット）
   (1) TaqMan　HCV QS〔HCV QS〕　1×3.6 mL（又は 6×3.6 mL）
   (2) TaqMan　HCV　マスターミックス〔HCV MMX〕 1×2.5 mL（又は 6×2.5 mL）
   プライマー-ST778AATBUA1
   プライマー-ST280ATBUA1
   2'-デオキシアデノシン-5'-三リン酸(dATP)
   2'-デオキシシチジン-5'-三リン酸(dCTP)
   2'-デオキシグアノシン-5'-三リン酸(dGTP)
   2'-デオキシウリジン-5'-三リン酸(dUTP)
   蛍光標識 HCV 用 DNA プローブ-ST650ACY5F15
   Z05 DNA ポリメラーゼ
   ウラシル N-グリコシラーゼ(UNG)
   (3) TaqMan　HCV　マンガン試液〔CAP/CTM Mn^{2+}〕 1×19.8 mL（又は 6×19.8 mL）
5. **TaqMan HCV 高値(＋)コントロール〔HCV H(+)C〕※1**
   4×　1.0 mL（又は 24×1.0 mL）
6. **TaqMan HCV 低値(＋)コントロール〔HCV L(+)C〕※1**
   4×1.0 mL（又は 24×1.0 mL）
7. **コバス TaqMan (－)コントロール〔CTM(-)C〕※1**
   4×　1.0 mL（又は 24×1.0 mL）
8. **コントロール用クリップ**
   (1) HCV　H(+)C 用バーコードクリップ　4 個（又は 24 個）
   (2) HCV　L(+)C 用バーコードクリップ　4 個（又は 24 個）
   (3) HCV　(-)C 用バーコードクリップ　4 個（又は 24 個）

※1ヒト血液由来成分を含みます。詳細は【全般的な注意】の項及び【使用上又は取扱い上の注意】の項「1．取扱い上（危険防止）の注意」を参照してください。

【使用目的】

血清又は血漿中の C 型肝炎ウイルス（HCV） RNA の測定（C 型肝炎ウイルス（HCV）感染症の診断の補助）

**【測定原理】

1. **本キットの測定は以下の3つのステップからなります。**

（1）試料の調製

検体前処理装置「コバス AmpliPrep」により自動で行います。
検体又はコントロールと TaqMan プロテアーゼ試液及び既知量の定量標準 RNA（HCV QS RNA）を含む TaqMan HCV QS の混合液に、イソプロパノールを含む TaqMan 磁性粒子懸濁液及びカオトロピック塩を含む TaqMan 溶解試液を添加してインキュベーションします。これによりウイルスが溶解し、試料中の核酸は磁性粒子に吸着します。核酸が吸着した磁性粒子は、磁石により捕らえられて固定され、溶解したウイルスのたん白などの不要な成分は洗浄により除去されます（B/F 分離）。これに TaqMan 溶出試液を加えて核酸を抽出し、最後に TaqMan HCV マスターミックスと TaqMan HCV マンガン試液を加えて試料とします。

（2）逆転写反応による標的 RNA から逆転写 DNA の合成

遺伝子解析装置「コバス TaqMan」又は「コバス TaqMan 48」により自動で行います。Mn^{2+}の存在下、逆転写活性と DNA ポリメラーゼ活性を合わせ持つ耐熱性 Z05 DNA ポリメラーゼにより逆転写反応を行い、HCV RNA 及び HCV QS RNA に相補的な逆転写 DNA(cDNA)が合成されます。

（3）増幅及び測定

リアルタイム PCR（Polymerase Chain Reaction）法[1),2)]を応用し、(2)に引き続き、遺伝子解析装置「コバス TaqMan」又は「コバス TaqMan 48」により自動で行います。測定には蛍光色素(レポーター)及び消光物質（クエンチャー）で標識した HCV 用及び HCV QS 用 DNA プローブを用います。このプローブの蛍光色素は、レポーターとクエンチャーが近くに存在する場合は、クエンチャーにより蛍光が消光され強い蛍光を発することはありませんが、レポーターとクエンチャーが切り離された場合は、レポーターが遊離するために強い蛍光を発するようになります。(2)で合成された cDNA を高温で1本鎖に変性させます(2サイクル目以後は、増幅した2本鎖 DNA を同様に高温で1本鎖に変性させます)。温度を下げると HCV 用及び HCV QS 用 DNA プローブが標的配列とハイブリダイズします。また、プライマーが標的配列の 3'末端側へアニールし、Mn^{2+}及びデオキシヌクレオシド三リン酸(dNTP)存在下、耐熱性 Z05 DNA ポリメラーゼの働きにより標的配列に相補的な DNA 鎖が伸長されます。DNA 鎖の伸長と同時に既に標的配列とハイブリダイズしている HCV 用及び HCV QS 用 DNA プローブは Z05 の 5'→3'エクソヌクレアーゼ活性により分解され蛍光を発します。この蛍光強度を HCV 用蛍光色素及び HCV QS 用蛍光色素それぞれに固有の異なる波長で測定します。この「熱変性」、「DNA プローブと標的配列のハイブリダイズ」、「プライマーのアニーリング」、「耐熱性 Z05 DNA ポリメラーゼによる相補鎖の伸長と DNA プローブの分解による蛍光発光」、「蛍光強度の測定」を所定のサイクルで連続的に繰り返し、各サイクルの PCR 産物をリアルタイムにモニターしながら増幅曲線を作成します。作成した増幅曲線より蛍光強度が一定量以上となるサイクル数を求め、Ct 値(critical threshold value)とします。HCV QS RNA の Ct 値と反応液中 HCV RNA の Ct 値を比較して試料中の HCV RNA 濃度を算出します。

2. **キャリーオーバーコンタミネーションの防止**

本キットでは、以下の方法により増幅された DNA 産物のキャリーオーバーコンタミネーションによる誤測定を最小限に抑制しています。
DNA 合成に必要な基質の一つである dTTP の代わりに dUTP を用いて増幅反応を行うため、増幅された DNA の塩基配列はチミン(T)がウラシル(U)に全て置き換わっています。また、この系で増幅された DNA が新たに試験する試料中へ混入した場合、マスターミックスに含まれているウラシル N-グリコシラーゼ(UNG)が作用し DNA 中の U 塩基は除去されます。塩基を失った DNA は構造上極めて不安定な分子であり、増幅反応の最初の加熱によりリン酸結合が切断され、新たな増幅の鋳型とはなり得ません。UNG は高温で失活するため、それ以後に増幅されてくる U 塩基を含む増幅 DNA は影響を受けません。また、UNG は6塩基以上の DNA 上のウラシルのみに反応し、モノマーの dUTP や RNA 上のウラシルには作用しません[3)]。

**【操作上の注意】

1. **測定試料の性質、採取法**

本キットの測定試料には、血清又は血漿を用います。抗凝固剤には EDTA を使用してください。ヘパリンは PCR 反応を阻害しますので使用しないでください。採血後6時間以内に遠心して血清又は血漿を分離し、ポリプロピレン製滅菌チューブに移してください。血清及び血漿は、2～8℃で7日間保存できますが、それを超えるような場合は-20℃以下で保存してください。なお、1 ヵ月を超えるような長期保存の場合は-70℃以下で保存することをお勧めします。凍結保存融解後はよく混和してから使用してください。ただし、凍結融解の繰り返しはできるだけ避けてください。

2. 妨害物質・妨害薬剤

ヘモグロビン、トリグリセライド、ビリルビン、ヒト血清アルブミン、ヒト DNA 及び自己免疫疾患(慢性関節リウマチ、抗核抗体及び全身性エリテマトーデス)による影響を検討するため、各妨害物質の臨床検体もしくは添加検体に HCV 陽性 EDTA 血漿パネルを最終濃度 1×10^4 IU/mL となるよう添加して本キットで測定したところ、以下の濃度まで測定値への影響は認められませんでした。自己免疫疾患については臨床検体での検討において測定値の影響は認められませんでした。

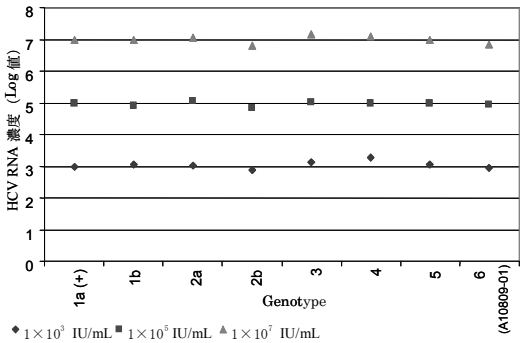
ヒト血清アルブミン	10,200 mg/dL
ビリルビン(非抱合型)	62.1 mg/dL
ヘモグロビン	470 mg/dL
トリグリセライド	3,186 mg/dL
ヒト DNA	0.4 mg/dL

以下の測定に影響を及ぼす可能性のある薬剤について、それぞれ最高血中濃度の1倍及び3倍になるよう HCV 陽性 EDTA 血漿検体(HCV RNA 濃度 420 IU/mL)に添加して本キットで測定したところ、測定値への影響は認められませんでした。

薬剤名	作用機序	最高血漿中濃度
ジドブジン	逆転写酵素阻害及びDNAポリメラーゼ阻害剤	1.06 μg/mL
ラミブジン		1.50 μg/mL
ジダノジン		2.32 μg/mL
スタブジン		4.15 μg/mL
硫酸アバカビル		3.00 μg/mL
フマル酸テノホビル ジソプロキシル	DNA ポリメラーゼ阻害剤	326 μg/mL
アデフォビル・ジピポキシル		18.4 ng /mL
硫酸インジナビル	プロテアーゼ阻害剤	8.98 μg/mL
サキナビル		2.48 μg/mL
リトナビル		11.2 μg/mL
ネルフィナビル		4.00 μg/mL
アンプレナビル		7.66 μg/mL
ロピナビル/レトナビル		9.60 μg/mL
ネビラピン	非核酸系逆転写酵素阻害剤	4.50 μg/mL
エファビレンツ		4.07 μg/mL
エンフヴィルチド	融合阻害剤	5.00 μg/mL
インターフェロン アルファ-2b	抗 HBV/HCV 薬	273 IU/mL
インターフェロン アルファ-2b	抗 HCV 薬(併用)	273 IU/mL
リバビリン		3.7 μg/mL
リバビリン	核酸阻害剤	3.7 μg/mL
インターフェロン アルファ-2a	抗 HBV/HCV 薬	2.58 ng/mL
ペグインターフェロン アルファ-2a	抗 HCV 薬	28 ng/mL
ペグインターフェロン アルファ-2a	抗 HBV/HCV 薬(併用)	28 ng/mL
リバビリン		2.75 μg/mL
ガンシクロビル	抗 CMV 治療薬	9.0 μg/mL
バルガンシクロビル		5.61 μg/mL
アシクロビル	抗 HSV, VZV 治療薬	1.61 μg/mL
塩酸パロキセチン	抗うつ剤	62 ng/mL
プロザック		55 ng/mL
セルトラリン		165 ng/mL

3. 反応特異性

HCV genotype 1a、1b、2a、2b、3a、4、5 及び 6a の転写産物について、3濃度(1×10^3、1×10^5 及び 1×10^7 IU/mL)となるように調製し、本キットを用いて6重測定を行ったところ、いずれの測定値とも対照(Genotype 1a)に対して±0.5 の範囲内であり、genotype 1 から 6a まで同様に測定が可能でした。



◆1×10^3 IU/mL ■1×10^5 IU/mL ▲1×10^7 IU/mL

4. 交差反応性

Staphylococcus aureus、*Candida albicans*、*Propionibacterium acnes*、Adenovirus type 2、Cytomegalovirus、Epstein-Barr virus、Human Herpes Virus 6、Herpes simplex virus type 1、Herpes simplex virus type 2、Human T-Cell Lymphotropic virus type 1、Human T-Cell Lymphotropic virus type 2、Influenza A、Hepatitis A virus、Hepatitis B virus、HIV-1 West Nile Virus、St. Louis Encephalitis Virus、Murray Valley Encephalitis Virus、Dengue Virus types 1, 2, 3 and 4、Yellow Fever Virus、Zika Virus、Banzi Virus、Ilheus Virus、FSME Virus 及び Hepatitis G Virus (GBV-C)について、HCV 陰性ヒト EDTA 血漿に添加した試料又はヒト臨床検体を本キットで測定したところ、交差反応は認められませんでした。

5. コンタミネーションの防止法

本キットでは TaqMan HCV マスターミックスにウラシル N-グリコシラーゼ(UNG)が添加されており、また Z05 DNA ポリメラーゼによる DNA 合成に必要な基質の一つである dTTP の代わりに dUTP を用いて PCR を行います。したがって、本キットにて増幅された DNA のキャリーオーバーコンタミネーションによる偽陽性を防止することはできますが、検体間で発生するクロスコンタミネーションを防止することはできません。クロスコンタミネーションは、主に検体を扱ったピペットなどで発生するエアロゾルやピペット本体の汚染が原因となりますので、検査区域の分割やピペットの専用化及び次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)による器具、実験台の清掃を徹底することで、クロスコンタミネーションを最小限に防止することができます。したがって、本キットの測定に当たっては次の事項を徹底するようにしてください。

(1) 検体及びコントロールをサンプルチューブ(S チューブ)に分注する際は、安全キャビネットを利用するなどバイオセーフティー/バイオハザードに準拠した環境で実施してください。
専用のピペットとチップなどを用意し、ほかの場所との共用は避けてください。ここで使用する器具や保護衣をほかの場所に持ち込まないでください。また、分注時には、すべて静かに操作してエアロゾルの発生をできる限り防止してください。

(2) 本キットを取り扱う際には微生物や核酸分解酵素のコンタミネーションを避けてください。汗や唾液に含まれる RNase や DNase が少量でも検体に混入しますと、RNA や DNA が分解され測定結果に誤りが生じる可能性があります。

(3) 実験台及び使用器具などが検体や増幅 DNA で汚染された場合は、用時調製した次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)でよく拭き取るか、紫外線照射をじゅうぶん行ってください。なお、ピペットなどの内部が汚染されたと判断された場合は、直ちにその使用を中止して新しい器具に交換してください。

以上の事項に従っても、クロスコンタミネーションが起こる可能性がありますので、結果の判定にはじゅうぶん注意してください。

6. その他の留意事項

試料中に PCR の妨害物質が存在すると正しい判定結果が得られないので注意してください。また試料中に標的 RNA が存在しても最小検出感度以下である場合には Target Not Detected(検出せず)と判定されることがありますので注意してください。

**【用法・用量(操作方法)】

1. 試液の調製方法及び安定性

すべての試薬はそのまま用います。

各試薬は、2～8℃保存から取り出したら直ちに「コバス AmpliPrep」にセットしてください。試料測定の少なくとも 30 分前にはコバス AmpliPrep 内の温度にしてから使用してください。試薬の温度が低い場合に反応がじゅうぶんでないため、本来の性能が得られないことがあります。バーコードに水滴がつかないよう、各試薬カセットはコバス AmpliPrep の外に放置しないでください。また、バーコードについた水滴はふき取らないでください。

2. 別途必要な器具・器材・試料等

(1) Kチューブラック※1
(2) Kキャリア※1
(3) Kキャリアラック(CAP/CTM48)※1
(4) Kキャリア トランスポーター※1
(5) サンプル処理ユニット【SPU】(CAP)※1:Sample Processing Units、検体又はコントロールと各試薬の混合など、試料の調製に用いる反応容器
(6) サンプル処理ユニット【SPU】ラック(CAP)※1
(7) S チューブ(CAP) (バーコードクリップ付) ※1:検体又はコントロールを分注するチューブ
(8) サンプル ラック(CAP/CTM)※1
(9) K チップラック(CAP)※1
(10) 試薬ラック(CAP)※1
(11) 洗浄試薬(CAP)※2
(12) 検体前処理装置「コバス AmpliPrep」
(13) 全自動 PCR 測定装置「コバス TaqMan」又は「コバス TaqMan 48」
(14) ドッキングステーション(「コバス AmpliPrep」と「コバス TaqMan」をドッキングして使用する場合)
(15) アンプリリンク ソフトウェア
(16) アンプリリンク用データステーション及びプリンター
(17) コバス TaqMan HCV「オート」用CD
(18) 安全キャビネット(陰圧)
(19) ゴム手袋(パウダーフリー)

※1「コバス TaqMan」又は「コバス TaqMan 48」専用の消耗品を使用してください。
※2別売品の専用試液を使用してください。

検体及びコントロールの分注専用として下記を用意してください（安全キャビネット内で使用します）。

(1) 試験管ミキサー
(2) マイクロピペット(1,000μL)及びチップ
（チップは疎水性フィルター付きで、1,000μL用）
(3) ゴム手袋（パウダーフリー）

3. 操作方法

1測定につきコントロールとして TaqMan HCV 高値(+)コントロール〔HCV H(+)C〕、TaqMan HCV 低値(+)コントロール〔HCV L(+)C〕、コバス TaqMan (−)コントロール〔CTM(−)C〕を測定し、精度管理を行ってください。

(1) 試料の調製

① コバス AmpliPrep の準備

(a) 本体のスイッチを入れて機械の始動を確認します（通常はスタンバイモードです）。
(b) データステーションのスイッチをオンし、Windows XP にログオンします。
(c) アンプリリンクを開き、ユーザーID 及びパスワードを入力してログオンします。
(d) 取扱説明書に従って洗浄試薬と廃液コンテナをチェックし、必要に応じて廃棄及び交換を行います。更に、取扱説明書に従って日常保守点検を行います。

② コバス TaqMan の準備

(a) コバス TaqMan のメインカバーを開けて 24 本の空の K チューブをセットした K キャリアを、作業エリアの左側にある K キャリア停止位置2にセットします（既にセットされている場合はこの作業は不要です）。
(b) 本体のスイッチを入れて機械の始動を確認します（通常はスタンバイモードです）。
(c) アンプリリンクの“System”ボタンをクリックし、“Service Due”タブを選択し、必要な保守点検があるかを確認し、ある場合は実行します。

③ コバス TaqMan 48 の準備

(a) 本体のスイッチを入れて機械の始動を確認します（通常はスタンバイモードです）。
(b) アンプリリンクの“System”ボタンをクリックし、“Service Due”タブを選択し、必要な保守点検があるかを確認し、ある場合は実行します。

④ 試薬のロード（セット）

試薬は使用する 30 分前には保管場所から取り出し、直ちに「コバス AmpliPrep」にロード（セット）してください。

(a) TaqMan HCV 試薬カセット1〔HCV CS1〕を試薬ラックにのせ、「コバス AmpliPrep」のラックポジション A にロードします。
(b) TaqMan HCV 試薬カセット2〔HCV CS2〕、TaqMan HCV 試薬カセット3〔HCV CS3〕及び TaqMan HCV 試薬カセット4〔HCV CS4〕を別の試薬ラックにのせ、「コバス AmpliPrep」のポジション B〜E のいずれかにのせます。

⑤ 消耗品のロード（セット）

検体及びコントロール1つにつき、SPU、S チューブ、K チューブ及び K チップ各1つが必要です。測定に必要な数を確認し、準備します。必要な試薬ラック、消耗品及びロードするラックポジションは、増幅及び測定に用いる機器の組み合わせにより異なります。右表を参照して準備してください。

(a) SPU を SPU ラックにセットし、ラックポジション J、K 又は L にセットします。
(b) 「コバス TaqMan」を用いる場合は、K チューブラックにセットされている K チューブをラックポジション M〜P にセットします。
(c) K チップラックにセットされている K チップをラックポジション M〜P にセットします。
(d) 「コバス TaqMan 48」を用いる場合は、K キャリアラックにセットした K キャリアをラックポジション M〜P にセットします。
組み合わせについては、右表を参照してください。

⑥ 試料のオーダー（登録）とロード（セット）

(a) サンプルラックの検体用 S チューブを置く位置にバーコードクリップを取り付けます。また、各コントロール用 S チューブを置く位置に専用バーコードクリップ（キット付属）を取り付けます。バーコードクリップを取り付けた各サンプルラックの位置に S チューブをセットします。
(b) アンプリリンクのアプリケーションバーにある“Orders”ボタンをクリックします。“Sample”タブを選択し、“New”ボタンをクリックし検体及びコントロールのオーダーを作成します。“Sample-Rack”タブで検体及びコントロールオーダーをサンプルラック位置に割り当てます。試験するすべての試料について“HCMCAP96”又は“HCMCAP48”が表示されていることを確認し、“Save”ボタンを押して保存します。
(c) “Sample-Rack”タブの左のパネルでラック ID を指定し、“Print”ボタンを選択してサンプルラック オーダーを印刷します。
(d) 検体及びコントロールを試験管ミキサーにて3〜5秒間混和します。
(e) S チューブのキャップを回して外し、それぞれオーダーで割り当てられた位置に検体及びコントロールを 1,000〜1,050 μL 分注します。S チューブのキャップを回して締めます。
(f) 右表の組み合わせ 1 及び 2 の場合は、サンプルラックをラックポジション F、G 又は H にセットします。 組み合わせ3〜4の場合（増幅及び測定に「コバス TaqMan 48」を用いる場合）は、検体又はコントロールを分注した S チューブの隣に K チューブをセットしてからサンプルラックをラックポジション F、G 又は H にセットします。その際、サンプルラックは静かに取り扱い、S チューブのキャップに検体及びコントロールが付着しないよう注意してください。

組み合わせ

組み合わせ		調製済み試料の移動方法 「コバス AmpliPrep」 ↓ 「コバス TaqMan」 又は 「コバス TaqMan 48」	ラック、キャリア、消耗品	「コバス AmpliPrep」ラックポジション
1	コバス AmpliPrep (ドッキングステーション付) ＋ コバス TaqMan	自動	K チューブラック	M 〜 P
			K チップラック	M 〜 P
			S チューブセット済サンプルラック	F 〜 H
			SPU セット済 SPU ラック	J 〜 L
			HCV CS1 セット済試薬ラック	A
			HCV CS2、CS3、CS4 セット済試薬ラック	B 〜 E
2	コバス AmpliPrep ＋ コバス TaqMan	手動 (K チューブをサンプルラックごとコバス TaqMan にセット)	K チューブラック	M 〜 P
			K チップラック	M 〜 P
			S チューブセット済サンプルラック	F 〜 H
			SPU セット済 SPU ラック	J 〜 L
			HCV CS1 セット済試薬ラック	A
			HCV CS2、CS3、CS4 セット済試薬ラック	B 〜 E
			試料の調製が終了すると、K チューブはサンプルラックにセットされています（手動でコバス TaqMan に移動します）。	(F 〜 H)
3	コバス AmpliPrep ＋ コバス TaqMan 48	手動 (K チューブを K キャリアごとコバス TaqMan 48 にセット)	K チューブラック	F 〜 H
			K チップラック	M 〜 P
			S チューブセット済サンプルラック	F 〜 H
			SPU セット済 SPU ラック	J 〜 L
			HCV CS1 セット済試薬ラック	A
			HCV CS2、CS3、CS4 セット済試薬ラック	B 〜 E
			K キャリアセット済 K キャリアラック	M 〜 P
			試料の調製が終了すると、K キャリアに入った K チューブが K キャリアラックにセットされています（手動でコバス TaqMan 48 に移動します）。	(M 〜 P)
4	コバス AmpliPrep ＋ コバス TaqMan ＋ コバス TaqMan 48	手動 (K チューブはサンプルラックごとコバス TaqMan に、K チューブは K キャリアごとコバス TaqMan 48 にセット)	組み合わせ2、3と同様	組み合わせ2、3と同様

⑦「コバス AmpliPrep」による試料の調製開始
(a) アンプリリンクのアプリケーションバーにある“System”ボタンをクリックし、“System”タブを選択し、試薬カセット、試料及びシステムの状態を確認します。
(b) “Start”ボタンをクリックして処理を開始します。
⑧「コバス AmpliPrep」による試料の調製終了後の操作（増幅及び測定に用いる機器の組み合わせ 1 においては不要です）
(a) アンプリリンクのアプリケーションバーにある“Messages”ボタンをクリックし、エラーがないことを確認します。
(b) “System”ボタンをクリックし、“Samples”タブを選択し、正常に試料が処理されたことを確認します。
(c) 調製済み試料の入ったサンプルラック（増幅及び測定に「コバス TaqMan」を用いる場合）又は K キャリアラック（増幅及び測定に「コバス TaqMan 48」を用いる場合）を取り出します（詳細は以下の「増幅と測定」の①を参照してください）。調製済み試料は直射日光から保護してください。

（2）増幅と測定
調製が終了した試料は、120 分以内に増幅操作を開始してください。調製済みの試料は凍結又は2～8℃で保存しないでください。

① 調製済み試料の移動
増幅及び測定に用いる機器の組み合わせにより操作が異なりますので下記を参照してください。
組み合わせ1：K キャリアが自動的に「コバス AmpliPrep」から「コバス TaqMan」に移動します。
組み合わせ2、4：調製済み試料入り K チューブがセットされたサンプルラックを手動で「コバス TaqMan」のサンプルラックロードエリアにセットします。
組み合わせ3、4：調製済み試料入り K チューブがセットされた K キャリアを、K キャリアートランスポーターを用いて手動で「コバス TaqMan 48」にセットします。

② 測定の開始
増幅及び測定に用いる機器の組み合わせにより操作が異なりますので下記を参照してください。
組み合わせ1：自動で測定が開始します。
組み合わせ2、4：「コバス TaqMan」にサンプルラックがセットされると、自動的に測定が開始します。
組み合わせ3、4：取扱説明書を参照し、「コバス TaqMan 48」のサーマルサイクラーのふたを開けて K キャリアをセットします。ふたを閉じ、アンプリリンクの“System”タブにある“Start”ボタンを押して測定を開始します。

③ 測定の終了
測定が終了したら、結果を印刷します。使用済みの K チューブを「コバス TaqMan」又は「コバス TaqMan 48」から取り外してください。

各機器の操作の詳細については、取扱説明書を参照してください。
操作の概略は最終ページの図を参照してください。

4. HCV RNA 濃度の算出
検体中の HCV RNA は既知量の定量標準 RNA（HCV QS RNA）と共に逆転写反応後、PCR により増幅されます。この PCR による増幅産物をサイクルごとにリアルタイムにモニターしながら、反応液中の HCV RNA 及び HCV QS RNA の増幅曲線を作成します。作成した増幅曲線より発光強度が一定量以上となるサイクル数を求め、Ct 値 (critical threshold value)とします。HCV QS RNA の Ct 値と反応液中 HCV RNA の Ct 値を比較して試料中の HCV RNA 濃度を全自動で算出します。
HCV RNA 量は、WHO 標準品に基づき IU/mL で表示されます。

*【測定結果の判定法】

1. 測定結果の判定
「コバス TaqMan」又は「コバス TaqMan 48」では検体及びコントロールの HCV RNA 濃度算定を自動で行います。HCV RNA 量は、IU/mL で表示されます。各コントロールについて、測定画面又は印字用紙に結果とともに記されるフラグ及びコメントをチェックして、測定が正しく行われたことを確認します。コントロールの測定結果のコメントにつきましては下表を参照してください。

コメント	解釈
QS_INVALID	内部定量検査用スタンダードの Ct 値が検査用ファイルのパラメーターの範囲を外れている
NC_INVALID	コバス TaqMan (-)コントロールの測定で、Target Not Detected の結果が得られていない
LPC_INVALID	TaqMan HCV 低値(+)コントロールの測定値が許容範囲から外れている
HPC_INVALID	TaqMan HCV 高値(+)コントロールの測定値が許容範囲から外れている

各測定検体についても同様にフラグ及びコメントをチェックします。
検体の測定結果については次のとおり表示されます。
検体測定結果のフラグにつきましては、各機器の取扱説明書を参照してください。

検体の判定結果

機器における測定結果の“表示”、“印字”	解釈
>6.90E+07 IU/mL	6.9×10^7 IU/mL を超えた
X.XXE+XX IU/mL	測定範囲内で結果を得た
<1.50E+01 IU/mL	15 IU/mL 未満であるが HCV 増幅反応シグナルは検出した
Target Not Detected	HCV 増幅反応シグナルを検出しなかった
Invalid	測定が無効であり、再度検体からの再検を行う必要がある

※「X.XXE＋XX IU/mL」の表示例（「1.23E+05 IU/mL」と表示された場合）：「1.23×10^5 IU/mL」を示します。
報告例については以下のとおりです。

	報告例 ①	報告例 ②	
機器における測定結果の“表示”、“印字”	結果	結果	HCV 増幅反応シグナル
>6.90E+07 IU/mL	>7.8 Log IU/mL* [$>6.9\times10^7$ IU/mL]	>7.8 Log IU/mL* [$>6.9\times10^7$ IU/mL]	検出
X.XXE+XX IU/mL	X.X Log IU/mL* [$X.X\times10^n$ IU/mL]	X.X Log IU/mL* [$X.X\times10^n$ IU/mL]	検出
<1.50E+01 IU/mL	<1.2 Log IU/mL* [<15 IU/mL]	<1.2 Log IU/mL* [<15 IU/mL]	検出
Target not Detected	検出せず	<1.2 Log IU/mL [<15 IU/mL]	検出せず

* 実数で“表示”、“印字”される測定結果を対数に変換したものです。
測定結果が測定上限（6.9×10^7 IU/mL）を超えたケースで測定値が必要な場合、測定上限を超えることが予測される検体、または高濃度が原因と考えられる QS_INVALID などのフラグが発生した検体※1は、高濃度領域測定法※2 にて測定を実施し、その結果を報告してください。
※1 HCV RNA量が高濃度の場合、QS_INVALID のフラグが発生することがあります。アンプリリンク上の測定結果の画面で “Measurement Detail” のタブをクリックしてPCR増幅曲線を確認してください。 Targetが「23サイクル未満」でCt値を得ている場合は、HCV RNA量が高濃度であると判断できます。
※2 高濃度領域測定法の「操作方法」は以下の手順に従って実施してください。

（1）試料の調製
「【用法・用量（操作方法）】3.操作方法 （1）試料の調製 」の手順に従って実施、⑥-(e)のステップにおいて以下の操作を行ってください。なお、コントロールは希釈せずに測定を行ってください。検体 500μL と生理食塩液 500μL をスクリューキャップ付き 1.5 mL 用チューブに分注、試験管ミキサーを用い 10 秒間混和・スピンダウンを行った後、全量を S チューブに分注します。試料分注済み S チューブはオーダーで割り当てられたサンプルラック元の位置に戻します。

（2）増幅と測定
「【用法・用量（操作方法）】3.操作方法 （2）増幅と測定」の手順に従って実施してください。

（3）HCV RNA 濃度の算出
「【用法・用量（操作方法）】4. HCV RNA 濃度の算出」を参照のうえ、算出された結果が対数の場合は“0.3”を加え、また実数の場合は“2”を乗じ、測定結果とします。

2. 結果の判定にかかる注意
(1) 以下の検体を測定した場合、誤判定となることがありますので注意してください。
① 血清又は EDTA 血漿以外の検体
② -20℃より高い温度で長期間保存された検体
③ 凍結と融解を5回より多く繰り返した検体
④ HCV RNA のコンタミネーションを受けた検体
上記のような検体の場合は、適切な検体を再度採取し測定を行ってください。また、RNA 抽出操作及び測定操作が不適切であると判断された場合は、再度測定してください。
(2) HCV 感染後、ある程度以上の血中 HCV 量となるまで検出することができない場合があります。また、本キットのプライマーやプローブの塩基配列と試料中の HCV RNA の塩基配列との相違が大きくなると、測定値が低くなるか測定できない可能性もありますので、判定にはじゅうぶん注意してください。そのほかの原因でも検出できない可能性がありますので、本キットで Target Not Detected（検出せず）と判定されても必ずしも HCV の存在を否定するものではありません。
測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状やほかの検査結果などと併せて担当医師が総合的に判断してください。
(3) HCV RNA が 1.0×10^2 IU/mL 付近より低濃度の検体では、測定値のバラツキが大きくなる傾向が認められるため、測定値の判読には注意してください。
(4) 反応の阻害などにより PCR における増幅効率が低下した場合、増幅曲線に対しソフトウエアの解析アルゴリズムが対応できないケースがまれに発生することがありますので、注意してください。
測定結果の報告に際しましては、臨床症状やほかの検査結果などと一致しない場合は、増幅曲線を確認し、曲線の乱れやベース

ライン補正(normalize 処理)に問題がないことをご確認してください。増幅曲線に問題が確認された場合は、再度測定してください。
(5) Genotype 4 の症例において本キットのプライマーやプローブの結合領域に変異がないにも関わらず、測定値が低く算出される事象が確認されております。そのため、結果の解釈には、その他の検査結果を含め総合的に判断してください。

【性能】

1. 性能

【用法・用量(操作方法)】の記載に従い、感度・正確性・同時再現性の各試験を行った場合、下記の規格値に適合します。

(1) 感度試験

「管理用試料1(HCV RNA 濃度 約 50 IU/mL)」を試料として操作した場合の Hit Rate%(シグナルが検出された試料数/正しく測定された試料数 × 100)は 95%以上です。

(2) 正確性試験

「TaqMan HCV 低値(+)コントロール」、「TaqMan HCV 高値(+)コントロール」及び「HCV 2次標準」を測定するとき、それぞれ対数変換した測定値は既知濃度の対数変換値の±0.5 の範囲内です。

(3) 同時再現性試験

「HCV2次標準」及び「TaqMan HCV 高値(+)コントロール」を 10 回同時に測定するとき、それぞれ測定は9回以上有効であり、測定値の CV 値は 35%以下です。

(4) 測定範囲

測定下限(最小検出感度※):15 IU/mL
測定上限:69,000,000 IU/mL
※ 95%以上の検出率が得られる濃度

2. 相関性試験成績

(1) 既存製品との相関-1

HCV 感染血清検体 116 例を試料として、本品と既承認品の比較検討を行ったところ、両法共に測定範囲内の結果が得られた 103 検体では良好な結果が得られました。

相関係数 r =0.966
回帰式 y =1.140x − 0.539
y:本品 x:既承認品

(2) 既存製品との相関-2

HCV感染血清検体207例を試料として、本品と既承認品の比較検討を行ったところ、両法共に測定範囲内の結果が得られた122検体では、良好な結果が得られました。

相関係数 r =0.915
回帰式 y =0.873x + 0.756
y:本品 x:既承認品

3. 較正用の基準物質(標準品)

WHO 標準品(96/790)

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上(危険防止)の注意

(1) 検体及び本キットの取扱いには、使い捨て手袋、実験着などの保護衣及び保護用眼鏡を着用するなど、人体に直接触れないように注意してください。また、測定終了後はよく手を洗ってください。
(2) ピペットは口で吸わないでください。
(3) 試薬が誤って目や口に入った場合には、直ちに水でじゅうぶんに洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当てなどを受けてください。
(4) 試薬が誤って皮膚及び粘膜に付着した場合には、直ちに多量の水で洗い流してください。
(5) 試薬をこぼした場合には水で希釈してから拭き取ってください。
(6) 検体又はヒト血液成分を含む試薬(TaqMan HCV 高値(+)コントロール〔HCV H(+)C〕、TaqMan HCV 低値(+)コントロール〔HCV L(+)C〕、コバス TaqMan (−)コントロール〔CTM(−)C〕)をこぼした場合は、次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)などの消毒液を使用してじゅうぶんに拭き取ってください。なお、拭き取る際には、ゴム製の手袋などにより手を保護してください。
(7) 検体及び本品を取り扱う場所では飲食又は喫煙をしないでください。
(8) 検体は感染性を有するものとして、各施設の安全規定に従って取り扱ってください。ヒト血液由来成分を含む構成試薬(正常ヒト血漿)は、HBs 抗原、抗 HIV-1/2 抗体及び HIV p24 抗原、抗 HCV 抗体、HIV-1 RNA、HCV RNA 、HBV DNA の陰性が確認されていますが、感染性がないことを完全に保証する試験方法はないため、検体と同様に感染性を有するものとして、施設の安全規定に従って取り扱ってください。
(9) 検体及びヒト血液成分を含む試薬(TaqMan HCV 高値(+)コントロール〔HCV H(+)C〕、TaqMan HCV 低値(+)コントロール〔HCV L(+)C〕、コバス TaqMan (−)コントロール〔CTM(−)C〕)を取り扱う際に使用した器具類は高圧蒸気滅菌器を用いて 121℃で 20 分間以上加熱滅菌処理をするか、次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)に1時間以上浸すなどにより消毒してください。これらの作業中はじゅうぶんに換気を行ってください。
(10) TaqMan HCV 試液カセット1〔HCV CS1〕は 93% イソプロパノールを含みます。イソプロパノールは引火性を有するため、火気のある場所での使用は避けてください。作業場所には局所廃棄装置を設けてください。一定の場所を定めて保管し、容器から出し入れするときにはこぼれないように注意してください。また、使用中はできるだけ皮膚に触れないようにし、必要に応じて防毒マスク又は送気マスク、保護用手袋などを着用してください。使用後はじゅうぶんに手を洗ってください。

2. 使用上の注意

(1) プライマー及びプローブは、測定するウイルスの遺伝子の中でも保存性が高く変異が少ない遺伝子領域を反応のターゲットとしておりますが、まれに起こる遺伝子の変異や欠損/挿入などにより、反応性が低下し正確に測定できない場合や検出できない場合があります。
(2) ウイルスの RNA の測定・検出の結果は、検体採取の方法や感染の進行度などの患者因子の影響を受ける場合があります。
(3) 従来の測定方法から新しい測定方法に変更する場合は、変更前後の測定方法の相関性などを確認のうえご利用してください。
(4) 試薬及び消耗品は専用のものを使用し、その容器・付属品などはほかの目的に転用しないでください。
(5) 試薬は必ず貯蔵方法に従って保存し、凍結させるなど指定の条件以外で保存したものや使用期限を過ぎたものは使用しないでください。
(6) ロットの異なる試薬又は残った試薬を混ぜ合わせて使用しないでください。
(7) バーコードをぬらしたり、ペンで記入するなどして汚したりしないでください。
(8) すべての構成試薬は使用前に 15〜25℃に戻してから使用してください。また、使用後は再び2〜8℃で保存してください。
(9) 使用開始後の試薬は微生物の汚染にご注意ください。
(10) 検査区域の分割やピペットの専用化及び次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)による器具、実験台の清掃などを徹底して行ってください。
(11) 本キットを取り扱う際には微生物や核酸分解酵素のコンタミネーションを避けてください。汗や唾液に含まれる RNase 又は DNase が少量でも検体に混入しますと、RNA や DNA が分解され測定結果に誤りが生じる可能性があります。
(12) TaqMan HCV 試薬カセット1〔HCV CS1〕、TaqMan HCV 試薬カセット2〔HCV CS2〕、TaqMan HCV 試薬カセット3〔HCV CS 3〕及び TaqMan HCV 試薬カセット4〔HCV CS4〕について、一度使用した試薬は、2〜8℃で使用後 28 日又は有効期限のうち、短い日付までが安定です。これらの試薬は最大4回測定、測定合計時間 64 時間までの使用が可能です。測定終了後は2〜8℃で保存してください。
(13) バーコードクリップは開封後、2〜30℃で保存してください。

3. 廃棄上の注意

(1) 測定により生じた廃液については、検体などと同様に滅菌又は消毒の処理を行ってください。また、これらを廃棄する場合には、各都道府県によって定められた規定に従ってください。
(2) 使用後の容器を廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物又は産業廃棄物など区別して処理してください。
(3) 遺伝子検査後の核酸試料及び増幅された DNA の廃棄は、次亜塩素酸剤を加えて有効塩素濃度が 5,000 ppm(0.5%)になるように混和後一晩放置するなど、DNA を破壊してから廃棄してください。
(4) DNA を扱ったピペットチップ及びプラスチック容器などは、次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)に一晩浸すなどにより DNA を破壊してから、焼却処理又は密閉できるビニール袋を2重に施し、医療廃棄物として処理してください。
(5) DNA を含む溶液は、次亜塩素酸剤を加えて有効塩素濃度が 5,000 ppm(0.5%)になるように混和後一晩放置するなど、DNA を破壊してから、各都道府県によって定められた規定に従って廃液処理してください。
(6) TaqMan HCV マスターミックス〔HCV MMX〕及び TaqMan HCV マンガン試液〔CAP/CTM Mn^{2+}〕は 0.09 w/v%アジ化ナトリウム、TaqMan HCV QS〔HCV QS〕は 0.05w/v%アジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性の金属アジドを生成することがあるため、廃棄の際には多量の水で洗い流してください。
(7) TaqMan HCV 試薬カセット2〔HCV CS2〕及びコバス AmpliPrep から出た廃液はチオシアン化グアニジンを含みます。チオシアン化グアニジンは次亜塩素酸剤と反応して有毒ガスを発生することがありますので、次亜塩素酸剤と接触させないでください。
(8) 使用済み SPU はチオシアン化グアニジンを含みます。チオシアン化グアニジンは次亜塩素酸剤と反応して有毒ガスを発生することがありますので、次亜塩素酸剤と接触させないでください。

4. その他の注意

本品による測定値は既存製品と高い相関性を示しますが、系統的な誤差を生じる場合がありますので、必要に応じて相関性について検討されることをお勧めします。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法

2〜8℃

2. 有効期間

24 ヵ月
使用期限(Exp.)は外箱に記載してあります。

【包装単位】

コバス TaqMan HCV「オート」 48テスト
コバス TaqMan HCV「オート」 Gパック 288テスト
(各構成試薬の詳細につきましては、【形状・構造等(キットの構成)】を参照してください)

【主要文献】

1） Higuchi, R. et al. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. Biotechnology (N Y). 1992, 10, p.413～417.
2） Heid, C. A. et al. Real time quantitative PCR. Genome Research. 1996, 6, p.986～994.
3） Longo, M.C. et al. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. Gene. 1990, 93, p.125～128.

【問い合わせ先】

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
カスタマーサポートセンター
〒105-0014 東京都港区芝2-6-1
フリーダイヤル： 0120-600-152

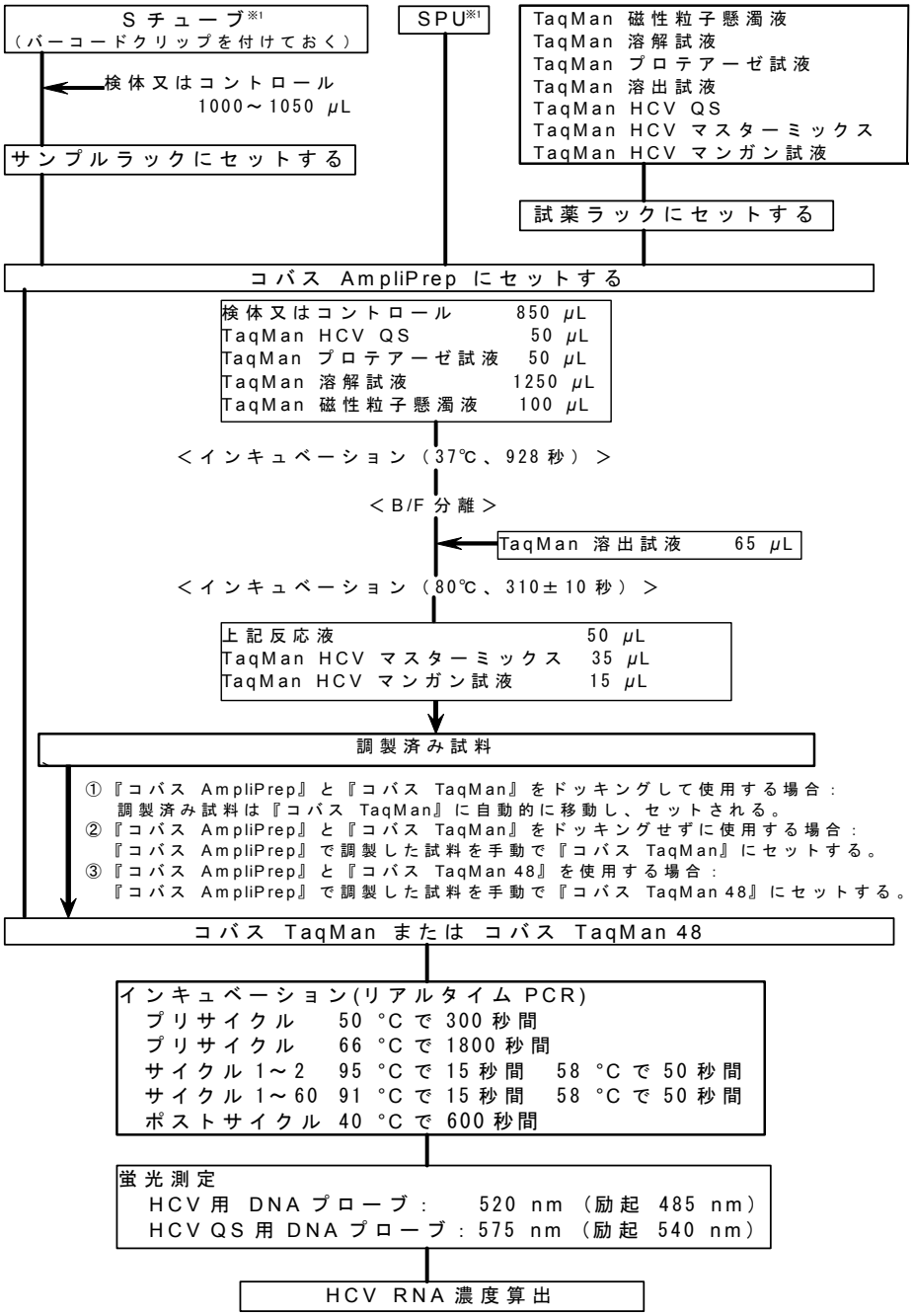
【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
〒105-0014 東京都港区芝2-6-1
フリーダイヤル： 0120-600-152

《特許に関連するお知らせ》

1. 本製品をご購入頂きましたお客様は、これら製品をヒトの体外診断目的における PCR による核酸配列の増幅と検出、及びその関連工程に使用することが許諾されています。この特定された使用許諾権以外には、いかなる種類の特許権又はライセンスも許諾されているものではありません。
2. 本製品の構成試薬の一部は、Chiron Corporation が保有し、Roche Molecular Systems 社及び F. Hoffmann-La Roche 社にライセンスされている米国特許及び対応外国特許でカバーされています。

《操作概略》



サンプル処理ユニット【SPU】(CAP)※1：Sample Processing Units、検体又はコントロールと各試薬の混合など、試料の調製に用いる反応カップ。
Sチューブ（CAP）（バーコードクリップ付）※1：検体又はコントロールをこれに分注する。

Roche ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
® 登録商標
0 5048702 001-I